

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

特開昭 5 6 - 8 2 0 9 8

PN=JP 56082098

DIALOG(R)File 352:DERWENT WPI

(c) 2000 DERWENT INFO LTD. All rts. reserv.

003200672

WPI Acc No: 81-61224D/198134

Purine nucleoside-5'-monophosphate prodn. - by reaction of
acetylphosphoric acid with purine nucleoside aided by microorganism of
genus e.g. Pseudomonas or Enterobacter

Patent Assignee: AJINOMOTO KK (AJIN)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
JP 56082098	A	19810704	JP 79158364	A	19791206		198134 B
JP 86041555	B	19860916					198641

Priority Applications (No Type Date): JP 79158364 A 19791206

Patent Details:

Patent	Kind	Lan	Pg	Filing Notes	Application	Patent
--------	------	-----	----	--------------	-------------	--------

JP 56082098	A		4			
-------------	---	--	---	--	--	--

Abstract (Basic): JP 56082098 A

Prepn. comprises reacting purine nucleoside with acetylphosphoric acid by the action of a microorganism (I) belonging to the genus Pseudomonas, Enterobacter, Aeromonas, Erwina, Proteus, Escherichia, Acinetobacter, Flavobacterium or Serratina. (I) is capable of producing purine nucleoside-5'- mono-phosphate from purine nucleoside and acetylphosphoric acid. (I) is e.g. Erwina herbicola ATCC 14537, Pseudomonas maltophilia ATCC 17806, Proteus mirabilis ATCC 15290, Escherichia coli ATCC 11246, Acinetobacter calcoaceticum ATCC 9036, Serratia marcescens ATCC 14226, Aeromonas punctata ATCC 11163, Enterobacter aerogenes ATCC 13048 or Flavobacterium fascium ATCC 14233.

The reaction is carried out by contacting purine nucleoside and acetylphosphoric acid with a mycelium of the microorganism, a treated mycelium (washed mycelium, acetone-dried mycelium, freeze-dried mycelium, ruptured mycelium, ultrasonic wave- treated mycelium, fixed mycelium, etc.) of the microorganism or an enzyme protein fraction obtd. from the mycelia or their insolubilised prod. The reaction is at 20-60 (30-50) deg. C, at pH 5-11 (7-10).

Derwent Class: B02; D16

International Patent Class (Additional): C12P-019/40; C12R-001/01

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑭ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭56—82098

⑮ Int. Cl.³
C 12 P 19/40
// (C 12 P 19/40
C 12 R 1/38)
(C 12 P 19/40
C 12 R 1/01)
(C 12 P 19/40
C 12 R 1/18)
(C 12 P 19/40
C 12 R 1/37)
(C 12 P 19/40
C 12 R 1/185)

識別記号

庁内整理番号
7115—4B

⑯ 公開 昭和56年(1981)7月4日

発明の数 1
審査請求 未請求

※

(全 4 頁)

⑭ プリンヌクレオシド—5'—モノフオスフエー
トの製造法

川崎市多摩区上麻生1826—17

⑰ 出 願 人 味の素株式会社
東京都中央区京橋1丁目5番8
号

⑱ 特 願 昭54—158364
⑲ 出 願 昭54(1979)12月6日
⑳ 発 明 者 小林久人

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称 プリンヌクレオシド—5'—モノ
フオスフエートの製造法
2. 特許請求の範囲
シュードモナス属、エンテロバクター属、エ
ロモナス属、エルビニア属、プロテウス属、エ
シエリヒア属、アシネトバクター属、フラボバ
クテリウム属又はセラチア属に属し、プリンヌ
クレオシドとアセチルリン酸とよりプリンヌク
レオシド—5'—モノフオスフエートを生成する
微生物を、水溶液中にてプリンヌクレオシドと
アセチルリン酸とに作用せしめてプリンヌクレ
オシド—5'—モノフオスフエートを生成せしめ、
これを採取することを特徴とするプリンヌクレ
オシド—5'—モノフオスフエートの製造法。
3. 発明の詳細な説明
この発明はプリンヌクレオシド—5'—モノフ
オスフエートの製造法に関する。
プリンヌクレオシド—5'—モノフオスフエー

ト(以下プリンヌクレオチドと記す)は、調味料、
医薬等の用途があり、プリンヌクレオチドを、p
—ニトロフェニルリン酸(特公昭39—29858)、
無機リン酸(特公昭42—1186)等をリン酸
供与体として生化学的にリン酸化し、プリンヌク
レオチドを製造する方法が知られている。

本発明者らはシュードモナス属、エンテロバク
ター属、エロモナス属、エルビニア属、プロテウ
ス属、エシエリヒア属、アシネトバクター属、フ
ラボバクテリウム属及びセラチア属の微生物より、
プリンヌクレオチドを、アセ^{ケル}リン酸をリン酸供
与体として高い効率でリン酸化して、プリンヌク
レオチドを生成する能力を有する多数の微生物を
見出した。

即ち、この発明はシュードモナス属、エンテロ
バクター属、エロモナス属、エルビニア属、プロ
テウス属、エシエリヒア属、アシネトバクター属、
フラボバクテリウム属又はセラチア属に属しプリ
ンヌクレオチドとアセチルリン酸とよりプリンヌ
クレオチド^も生成せしめ、これを採取することを特

酸とするプリンスクレオシド-5'-モノフوسفエートの製造法である。

本発明において使用される微生物は、エルビニア属、シュードモナス属、プロテウス属、エシエリヒア属、アシネトバクター属、セラチア属、エロモナス属、エンテロバクター属、又はフラボバクテリウム属に属し、ヌクレオシドとアセチルリン酸からヌクレオシドに対応するプリンスクレオチドを生成する能力を有する微生物である。

例えば、以下のものがある。

エルビニア・ヘルビコーラ	ATCC 14537
エルビニア・ヘルビコーラ	ATCC 14536
シュードモナス・マルトフィリア	ATCC 17806
プロテウス・ミラビリス	ATCC 15290
エシエリヒア・コリ	ATCC 11246
アシネトバクター・カルコアセテカス	ATCC 9036
セラチア・マルセスセンス	ATCC 14226
エロモナス・バンクタータ	ATCC 11163
エンテロバクター・エロゲネス	ATCC 13048
フラボバクテリウム・フアスカム	ATCC 14233

〜40℃にて0.5〜5日間好氣的に培養すれば、より好ましい結果が得られる。

本発明の微生物を水溶液中にてプリンスクレオシドとアセチルリン酸とに作用せしめる方法はかくして得られた培養液、この培養液から採取した菌体又はこの菌体の処理物(例えば、洗浄菌体、アセトン乾燥菌体、凍結乾燥菌体、菌体破砕物、菌体の自己消化物菌体のリゾチーム処理物、菌体の超音波処理物、菌体を固定化したもの)、更にこれら菌体からえられた酵素蛋白区分その不溶化物等を、水溶液中にてプリンスクレオシドとアセチルリン酸とに接触せしめればよい。

又、微生物の培養途中、微生物の生育を阻害しない程度にプリンスクレオシドとアセチルリン酸とを適量添加して本発明の微生物を作用せしめてもよい。

本発明のプリンスクレオシドとしては、プリンリボシド、イノシン、グアノシン、キサンチン、アデノシンなどが含まれる。従つて、プリンスクレオチドとしては、プリンリボシド-5'-モノフ

上記微生物を培養するための培地としては、炭素源、窒素源、無機イオンなどを含む通常の栄養培地が使用できる。炭素源としては、例えばグルコース、シュクロース、デキストリン、糖蜜等の糖類、フマル酸、クエン酸等の有機酸、エタノール、グリセリン等のアルコールなどが使用できる。窒素源としては、例えば塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム等のアンモニウム塩、アンモニア水、アンモニアガスなどが好適である。

必要ならば、更にアミノ酸、ビタミン等、及びこれらを含む酵母エキス、ペプトン、肉エキス、コーンステイプリカーなどの有機微量栄養素が必要により適宜培地に添加される。

無機イオンとしては、例えば第1鉄イオン、マグネシウムイオン、マンガンイオン、リン酸イオン、カリイオンなどが必要により培地に適宜添加される。

上記微生物の培養は常法によれば良く、例えば培地のpHを5〜8とし、微生物を接種後、20

4.13-5'-モノフوسفエート、オスフェート、キサンチン-5'-モノフوسفエート、アデノシン-5'-モノフوسفエートなどが生産される。

プリンスクレオシドの使用量はいくらかでもよいが、あまり少ない量では効率が悪く、あまり高い量ではプリンスクレオチドの収率が低下する。アセチルリン酸の使用量は通常プリンスクレオシド等²モル以上である。

反応は通常、温度20〜60℃、より好ましくは30〜50℃、pH5〜11より好ましくはpH7〜10で行う。反応時間は静置、攪拌、滴下等の手段、あるいは菌体の状態によつて異なるが一様ではないが、パッチ法では通常1〜100時間程度である。

反応液中に生成蓄積したプリンスクレオチドの分離精製は通常のイオン交換樹脂を用いる方法やその他の通常の手段のいずれもが使用できる。

実施例 1

肉エキス 1.0 g/dl、ペプトン 1.0 g/dl、グルコース 1.0 g/dl、食塩 0.5 g/dl を含有する栄養培地 (pH 7.0) を 500 ml 肩付フラスコに 50 ml 宛入れ、120℃にて15分間加熱殺菌した。これに、斜面培養したエルビニア・ヘルビコーラ ATCC 14537 を接種し、30℃で24時間、振とう培養した。かくして得られた菌体を遠心分離器で集め、蒸留水に懸濁して菌体懸濁液を調製した。

グアノシン 4.0 g、アセチルリン酸カリウム 4.0 g を含む反応液 800 ml を用意し、pH を 9.0 に調節した後、菌体懸濁液 200 ml (乾燥菌体重量換算 2.5 g) を添加し、反応 pH を 9.0 に再調節してから、45℃に3時間振とうしつつ保った。その結果、反応液中に 0.31 g/dl のグアノシン-5'-モノフォスフェートが蓄積された。

実施例 2

実施例 1 と同様な方法で第 1 表に示す微生物を培養し、菌体懸濁液を調製した。

ヌクレオチドとしてはイノシン 1 g、グアニン 1 g、キサンチン 1 g、又はアデノシン 1 g を用い、それぞれについてアセチルリン酸カリウム 1 g を含む反応液 40 ml を用意し、これに各細菌の菌体懸濁液 10 ml (乾燥菌体重量換算 120 mg) を添加して反応 pH を 9.0 に調節後、45℃で4時間静置した。その結果、反応終了液中に、第 1 表に示す如くプリンヌクレオチドが生成蓄積された。

第 1 表

供試微生物	イノシン-5'-モノフォスフェート (g/dl)	グアノシン-5'-モノフォスフェート (g/dl)	キサンチン-5'-モノフォスフェート (g/dl)	アデノシン-5'-モノフォスフェート (g/dl)
エルビニア・ヘルビコーラ (ATCC 14537)	0.42	0.21	0.32	0.38
シュートモナス・マルトフィリア (ATCC 17806)	0.25	0.11	0.12	0.21
プロテウス・ミラビリス (ATCC 15290)	0.26	0.10	0.19	0.21
エセリシア・コリ (ATCC 11246)	0.16	0.04	0.11	0.14
アシネトバクター・カルコアセチカス (ATCC 9036)	0.31	0.13	0.23	0.27*
セラチア・マルセスセンス (ATCC 14226)	0.28	0.10	0.24	0.26
エロモナス・バンクタータ (ATCC 11163)	0.35	0.18	0.26	0.32
エンテロバクター・エロゲネス (ATCC 13048)	0.36	0.17	0.30	0.31
フラボバクテリウム・フラスカム (ATCC 14233)	0.16	0.05	0.10	0.13

※本細菌は、アデニン核の 6 位のアミノ基を脱アミノ化する能力が強く、この反応を併発した為にアデノシン-5'-モノフォスフェートを蓄積せずイノシン-5'-モノフォスフェートを蓄積した。

実施例 3

エルビニア・ヘルビコーラ ATCC 14537 を実施例 1 と同様な条件下で培養し、培養液を得た (実施例 1 の如く、菌体懸濁液は調製しない)。一方、イノシン 1 g、アセチルリン酸カリウム 1 g を水約 50 ml に溶解させ、溶液の pH を予め 10.0 に調節した後、上記培養液 50 ml と混ぜ、混合液 (100 ml) の pH を 10.0 に再調節した。これを 45℃にて5時間振とうした結果、0.31 g/dl のイノシン-5'-モノフォスフェートが生成蓄積された。

特許出願人 味の素株式会社

第1頁の続き

⑤Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

(C 12 P 19/40

C 12 R 1/20)

(C 12 P 19/40

C 12 R 1/425)

⑦発明者 鎌田誠啓

横浜市港北区綱島46-3

⑦発明者 江井仁

逗子市池子二丁目30-2